

УДК 632.4

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ К СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ SR ГЕНОВ В ОБРАЗЦАХ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР**И.Д. Созина¹, В.В. Соляникова¹, О.А. Баранова², О.П. Митрофанова³**¹ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия² Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия³ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

Заболевание стеблевыми ржавчинами пшеницы вызывается фитопатогенным грибом *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* и представляет большую угрозу для пищевой и сельскохозяйственной промышленности, так как может вызывать до 100 % потери урожая. В связи с усилением вредоносности стеблевой ржавчины на территории Российской Федерации и возможным заносом высоковредоносной расы этого патогена – Ug99 и ее биотипов, особое значение приобретает идентификация эффективных генов устойчивости в российских сортах пшеницы (Баранова и др., 2018).

Особый интерес для селекции представляют гены: *Sr28*, *Sr25*, *Sr2*, *Sr38*, *Sr57/Lr34* и *Sr31* (Анпилогова Л.К., Волкова Г.В., 2000; Баранова и др., 2015; Лапочкина и др., 2016).

Целью исследования стала оценка устойчивости 14 сортов и 16 перспективных селекционных линий озимой мягкой пшеницы из коллекции ВИР к стеблевой ржавчине и идентификация в них *Sr* генов с использованием молекулярных маркеров.

Основным методом, используемым для идентификации генов является метод ПЦР. Зерна исследуемых образцов пшеницы проращивали в течение 5 суток. Из проростков выделяли ДНК СТАВ методом (Murray, Thompson, 1980). Для идентификации генов устойчивости (*Sr28*, *Sr25*, *Sr2*, *Sr38*, *Sr57/Lr34* и *Sr31*) использовали специфичные праймеры (<http://maswheat.ucdavis.edu>). Детекцию продуктов амплификации проводили методом электрофореза в 2 % агарозном геле.

Оценка устойчивости проведена по принятой лабораторной методике на стадии проростков (Jin et al., 2007). Реакцию проростков на инокуляцию суспензией *P. graminis* проводили на 10–12 сутки по стандартной шкале Стекмана (Stakman et al., 1962).

В работе были использованы омская популяция возбудителя стеблевой ржавчины 2018 года и субпопуляция с сорта Нивосибирская 41, а также монопустульные изоляты гриба – «3.1» из зерноградской популяции патогена и «Ф_{18.6}» из саратовской популяции гриба.

На первом этапе работы 14 сортов и 16 перспективных селекционных линий озимой мягкой пшеницы из коллекции ВИР были оценены на устойчивость к омской популяции *P. graminis*, и к двум монопустульным изолятам гриба (3.1, Ф_{18.6}). К омской популяции патогена были устойчивы 6 образцов, к популяции с сорта Нивосибирская 41 – 11 образцов, к изоляту 3.1 – 12 образцов и к изоляту Ф_{18.6} – 5 образцов. Из изученных сортов и линий только сорт Настя и линии KS-18474, KS-18683 и KS-18709 были устойчивы ко всем взятым на анализ популяциям и изолятам возбудителя стеблевой ржавчины. В результате идентификации генов устойчивости с использованием молекулярных маркеров, ген *Sr31/Lr26* был идентифицирован с помощью маркера *scm9* у 5 образцов из 30 исследуемых. Ген *Sr57/Lr34* идентифицирован в 11 сортах с использованием маркера *csLV34* (рис. 1). Из генов, эффективных против Ug99, в образцах был идентифицирован ген *Sr28* (маркер *wPt-7004*) в 7 образцах (рис. 2).

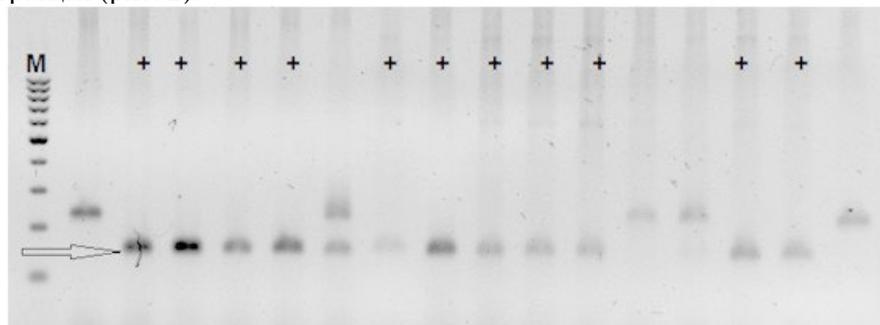


Рисунок 1 – Идентификация гена *Sr57/Lr34* с использованием молекулярного маркера *csLV34*: М – маркер молекулярного веса 100 bp «Fermentas». (+) – образцы с геном *Sr57*. Стрелкой указан диагностический фрагмент с молекулярным весом 150 п.о.

Результаты исследования 14 сортов и 16 линий мягкой озимой пшеницы из коллекции ВИР по устойчивости к стеблевой ржавчине и идентификации Sr генов представлены в таблице (табл. 1).

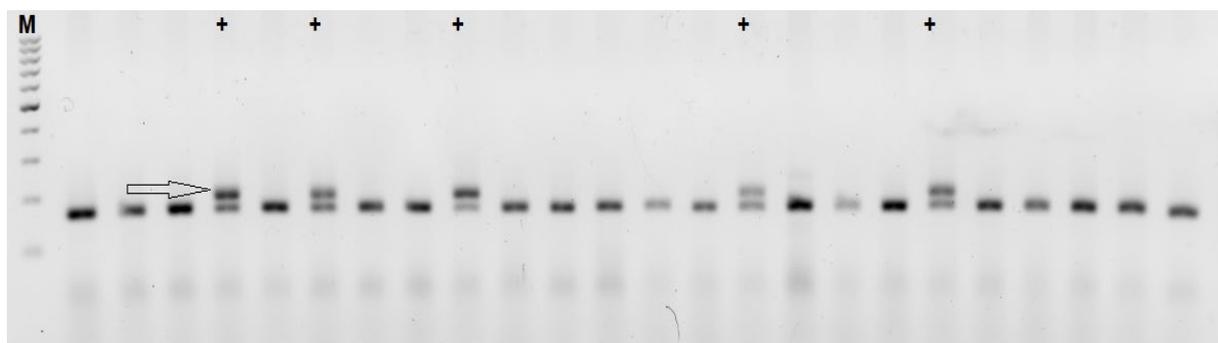


Рисунок 2 – Идентификация гена Sr28 с использованием молекулярного маркера wPt7004: М – маркер молекулярного веса 100 bp «Fermentas». (+) – образцы с геном Sr28. Стрелкой указан диагностический фрагмент с молекулярным весом 194 п.о.

Таблица 1 – Результаты оценки устойчивости к стеблевой ржавчине и идентификации Sr генов

Номер в каталоге ВИР	Название	Реакция на инокуляцию				Гены устойчивости					
		3.1 мп	Новос 41 (2018) поп	Ф18.6 мп	Ом 18 (2018)	Sr31	Sr57/Lr34	Sr28	Sr2	Sr38	Sr25
64676	Zemlyachka odes'ka	3	2+	4	4	-	+	-	-	-	-
65052	Otaman	3	2+	3	3	-	-	-	-	-	-
65061	Titona	2+	3-	3	3	-	-	-	-	-	-
66334	Капитан	3	3-	3	4	-	-	+	-	-	-
66335	Лилит	2++	3-	3	4	-	-	-	-	-	-
66503	Быль	2+	3	3-	4	-	+	+	-	-	-
66504	Базис	3+	3	3	4	-	-	-	-	-	-
66505	Вьюга	3+	3-	3-	4	-	-	-	-	-	-
65656	Славица	3	3	3-	4	-	-	+	-	-	-
65671	Прелюдия	3	2+	3	4	-	-	-	-	-	-
65672	Фируза 40	2+	2+	3+	3-	-	-	-	-	-	-
65673	Феония	3	3	3	3	-	+	-	-	-	-
65674	Арабеска	3	2+	3	3-, 3	-	+	-	-	-	-
65675	Настя	0; 1-	1-	2-	0	-	-	-	-	-	-
65761	KS-18474	1-	1	1	0; 1-	+	-	+	-	-	-
65762	KS-19535	0; 1	X1/3	3,3-	3-	+	+	-	-	-	-
65763	KS-18551	3	3	3	4	-	+	-	-	-	-
65764	KS-18558	4	3+	4	3	-	-	-	-	-	-
65765	KS-18562	2+	4	3	3	-	-	+	-	-	-
65766	KS-18572	3	3-	4	2+, 3	-	-	-	-	-	-
65767	KS-18635	3	3-	4	3-	-	+	-	-	-	-
65768	KS-18641	4	3-	3	2++	+	+	-	-	-	-
65769	KS-18683	1	1	1	1	+	+	-	-	-	-
65770	KS-18691	4	3	3+	2+	-	-	-	-	-	-
65771	KS-18701	3-	1,2	2+	3-	-	-	-	-	-	-
65772	KS-18708	3-	3-	3	3-	-	-	+	-	-	-
65773	KS-18709	1	1	2	1	+	-	-	-	-	-
65774	KS-18731	3-	3	3	3-	-	-	+	-	-	-
65775	KS-18794	1	2+	3	3	-	+	-	-	-	-
65776	KS-18736	1	3	3	3-	-	+	-	-	-	-

Таким образом, в результате анализа выявлены перспективные для селекции линии, с идентифицированными генами устойчивости – KS-18474 (*Sr31* + *Sr57* / *Lr34* + *Sr28*), KS-18683 (*Sr31*) и KS-18709 (*Sr31* + *Sr57* / *Lr34*). Гены *Sr2*, *Sr25*, и *Sr38*/*Lr37* в проанализированном материале обнаружены не были.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jin Y., Singh R.P., Ward R.W. Wanyera R., Kinyua M., Njau P., Fetch T., Pretorius Z.A., Yahyaoui A. Characterization of seedling infection types and adult plant infection responses of monogenic Sr gene lines to race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. tritici // Plant Disease. 2007. – С. 1096–1099.
2. MASWheat site: maintained by Marcelo A. Soria. [Электронный ресурс]. Дата обновления: 12.04.2019. URL: <http://maswheat.ucdavis.edu/Index.htm> (Дата обращения: 12.07.2019).
3. Murray, M.G. and Thompson, W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* 8. 1980. – С. 4321–4325.
4. Stakman E.C., Stewart D.M., Loegering W.Q. Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. tritici. United States Department of Agriculture – Agricultural Research Service. 1962. E-617 (rev)
5. Анпилогова Л.К., Волкова Г.В. Методы создания искусственных инфекционных фонов и оценки сортообразцов пшеницы на устойчивость к вредоносным болезням (фузариозу колоса, ржавчинам, мучнистой росе). – Краснодар, 2000. – 28 с.
6. Баранова О.А., Лапочкина И.Ф., Анисимова А.В., Гайнуллин Н.Р., Иордан-ская И.В., Макарова И.Ю. Идентификация генов Sr у новых источников устойчивости мягкой пшеницы к расе стеблевой ржавчины Ug99 с использованием молекулярных маркеров. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015; 19(3). – С. 316–322.
7. Баранова О.А., Михайлова Л.А., Коваленко Н.М., Хакимова А.Г., Пюккенен В.П., Митрофанова О.П. Устойчивость образцов озимой мягкой пшеницы из коллекции генетических ресурсов растений вир к стеблевой ржавчине (*Puccinia graminis* f. sp. tritici): Каталог. – Санкт-Петербург, 2018. – 111 с.
8. Лапочкина И.Ф., Баранова О.А., Шаманин В.П., Волкова Г.В., Гайнуллин Н.Р., Анисимова А.В., Галингер Д.Н., Лазарева Е.Н., Гладкова Е.В., Ваганова О.Ф. Создание исходного материала яровой мягкой пшеницы для селекции на устойчивость к стеблевой ржавчине (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. tritici), в том числе и к расе Ug99, в России. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016; 20(3). – С. 320–328.